

Ketahanan Asam Lemak Tidak Jenuh dalam *Crude Palm Oil* Terproteksi terhadap Aktivitas Mikrob Rumen Domba *in Vitro*

Protection of Unsaturated Fatty Acid in Crude Palm Oil from Sheep Microbial Activity *in Vitro*

N. C. Tiven^{a*}, L. M. Yusiati^b, Rusman^b, & U. Santoso^c

^aProgram Pascasarjana Universitas Gadjah Mada
Jln. Fauna 3 No. 3, Kampus UGM, Yogyakarta 55281

^bDepartemen Ilmu dan Industri Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada
Jln. Fauna 3 No. 3, Kampus UGM, Yogyakarta 55281

^cFakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jln. Sosio Yustisia, Yogyakarta 55281
(Diterima 21-05-2010; disetujui 24-09-2010)

ABSTRACT

The experiment was aimed to study the composition of unsaturated fatty acid, fermentation parameter and microbial activity in the rumen-buffer mixture when protected CPO with casein and formaldehyde was incubated in the *in vitro* fermentation. CPO and milk powder (1:2) were mixed, added technical formaldehyde 0%, 1%, 2%, and 3% by weight of blend, mixed again to form CCPO. The amount of 0% (0 mg), 1.5% (4.5 mg), 3% (9 mg), 4.5% (13.5 mg) and 6% (18 mg) CCPO was inserted into fermenter bottles containing napier grass and rice bran (60:40), was tested *in vitro*. The data were analyzed by completely randomized design with factorial pattern 4 x 5 (level of formaldehyde as factor A and level of CPO as factor B). The different of treatments were tested by Duncan's new multiple range test. Result shows that the increase of formaldehyde level could increase unsaturated fatty acids content, CMC-ase activity, microbial protein and number of protozoa, but decreased NH₃, VFA, and pH of rumen fluid. The increase of CPO level also increased fatty acid composition and microbial protein, but decreased NH₃, VFA, and pH, CMC-ase activity and number of protozoa in rumen fluid. It can be concluded that encapsulated CPO with formaldehyde increased unsaturated fatty acid composition and microbial activity, but decreased fermentation parameters.

Key words: unsaturated fatty acid, fermentation parameters, rumen microbial activity

PENDAHULUAN

Tingginya asam lemak tidak jenuh dalam pakan relatif tidak berpengaruh terhadap komposisi asam lemak daging ruminansia, karena adanya proses hidrogenasi oleh mikrob rumen menjadi asam lemak jenuh. Akibatnya, semua lipida pakan yang memasuki duodenum didominasi asam lemak jenuh (Wood *et al.*, 2008), sehingga lemak ruminansia menjadi lebih keras dan dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular pada konsumen (Mauger *et al.*, 2003). Selain itu, penggunaan lemak yang tinggi dalam pakan ruminansia perlu diwaspadai karena dapat memberikan efek negatif terhadap proses fermentasi dalam rumen, seperti membatasi sintesis mikrob rumen dan pencernaan serat (Jalč *et al.*, 2006).

Sumber lemak pakan dapat diproteksi dengan formaldehida untuk mencegah hidrogenasi mikrob rumen terhadap asam lemak tidak jenuh, serta meningkatkan penggunaan lemak dalam ransum (Kitessa *et al.*, 2001; de Veth *et al.*, 2005). Partikel minyak dikelilingi oleh ikatan antara protein dan formaldehida sehingga mencegah hidrogenasi asam lemak tidak jenuh pada kondisi netral dalam rumen (pH 6-7), tetapi pada kondisi asam dalam abomasum (pH 2-3) ikatan antara protein dan formaldehida terpecah, asam lemak tidak jenuh dapat dicerna dan diabsorpsi dalam usus halus.

Minyak sawit kasar (CPO/crude palm oil) yang diekstrak dari mesokarp buah sawit (Loi *et al.*, 2010), mengandung asam lemak poli tak jenuh (polyunsaturated fatty acid-PUFA) relatif tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai sumber energi dan sumber asam lemak tidak jenuh dalam ransum. Komposisi asam lemak dalam CPO adalah 0,25% laurat (C12:0), 1,36% miristat (C14:0), 42,59% palmitat (C16:0), 0,13% stearat (C18:0), 43,24% oleat (C18:1), 12,15% linoleat (C18:2), dan 0,29%

* Korespondensi:
HP: 081328668298, e-mail: nafly_tiven@yahoo.co.id

linolenat (C18:3) (Suharyanto, 2006), sedangkan menurut Sampaio *et al.* (2010), komposisi asam lemak pada minyak kelapa sawit antara lain 0,50% laurat, 0,92% miristat, 36,84% palmitat, 4,77% stearat, 44,51% oleat, 11,12% linoleat, dan 0,24% linolenat. Menurut Mukherjee & Mitra (2009), minyak kelapa sawit mengandung asam lemak jenuh (SAFA), yaitu palmitat 44,3%, stearat 4,6%, miristat 1,0%; asam lemak tidak jenuh tunggal (MUFA), yaitu oleat 38,7%; asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA), yaitu linoleat 10,5% dan lainnya sebesar 0,9%.

Penelitian bertujuan untuk menganalisa komposisi asam lemak tidak jenuh, parameter fermentasi, dan aktivitas mikrob dalam cairan rumen *in vitro*, menggunakan CPO sebagai sumber asam lemak, yang diproteksi dengan susu skim sebagai sumber protein dan formaldehida. Hasil penelitian ini dapat menjadi dasar penelitian lanjutan secara *in vivo* pada ternak domba lokal, dengan harapan dapat memperkaya kandungan asam lemak tidak jenuh dalam daging dan meningkatkan penampilan produksinya.

MATERI DAN METODE

Pengujian *in Vitro*

Crude palm oil dicampur terlebih dahulu secara merata dengan susu bubuk afkir, dengan perbandingan 1:2. Susu bubuk afkir diperoleh dari pabrik susu SGM, yang tidak dijual bebas tetapi hanya digunakan untuk pakan ternak. Setelah tercampur merata, ditambahkan formaldehida teknis 37% dengan level 0%, 1%, 2%, dan 3% dari berat campuran tersebut kemudian dicampur kembali secara merata sehingga membentuk kapsul CCPO (capzulated crude palm oil). Substrat, berupa rumput gajah dan bekatul, digunakan dengan perbandingan 60 : 40 sebanyak 300 mg. CCPO masing-masing sebanyak 0% (0 mg), 1,5% (4,5 mg), 3% (9 mg), 4,5% (13,5 mg) dan 6% (18 mg) ditimbang dan dimasukkan dalam botol fermentor yang telah berisi substrat pakan, kemudian dimasukkan juga 30 ml campuran cairan rumen dan bufer. Cairan rumen diperoleh dari domba lokal betina dengan cara ditrokar.

Pengujian dilakukan dengan sistem fermentasi tertutup anaerob pada suhu 39 °C selama 48 jam sesuai metode Menke & Steingass (1998) yang telah dimodifikasi oleh Ranilla *et al.* (2001). Setelah proses fermentasi dihentikan, botol fermentor dibagi dalam dua kelompok, yaitu (1) untuk pengujian asam lemak, dan (2) untuk pengujian parameter fermentasi dan aktivitas mikrob (masing-masing berjumlah 60 botol fermentor). Pembagian jumlah botol fermentor (bukan isi botol) ini perlu dilakukan karena untuk pengujian asam lemak, seluruh isi botol akan ditambahkan dengan kloroform metanol (2:1) sehingga tidak dapat digunakan lagi untuk pengujian parameter fermentasi dan aktivitas mikrob rumen.

Pengujian Asam Lemak

Dua puluh ml campuran kloroform metanol (2:1) ditambahkan ke dalam botol fermentor yang berisi sampel pakan, perlakuan CCPO dan 30 ml larutan fer-

mentasi, dan didiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (supernatan) dibuang, sedangkan lapisan bawah (endapan) diambil dan disaring menggunakan kertas saring ke dalam tabung reaksi untuk diekstraksi dan dimetilasi, kemudian dianalisa komposisi asam lemaknya dengan metode kromatografi gas (AOAC, 2005).

Pengujian Parameter Fermentasi dan Aktivitas Mikrob

Setelah proses fermentasi dihentikan, cairan fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 500 g selama 15 menit untuk memisahkan partikel bahan pakan. Sebagian filtrat yang diperoleh dari hasil sentrifugasi ini digunakan untuk menghitung jumlah protozoa (Abreu *et al.*, 2004), sedangkan sebagian disentrifugasi lagi dengan kecepatan 10.000 g selama 15 menit untuk memisahkan endapan mikrob. Filtrat diambil untuk penentuan aktivitas CMC-ase, berdasarkan jumlah gula reduksi yang terbentuk dari substrat CMC (Halliwell *et al.*, 1985), yang dinyatakan dalam aktivitas enzim spesifik dengan mengukur kadar protein enzim menggunakan metode Lowry (Niamke *et al.*, 2005), N-NH₃ (Weatherburn, 1967), total VFA dengan metode *gas chromatography* serta pH (Abreu *et al.*, 2004). Endapan mikrob dilarutkan dengan menambahkan 0,5 ml NaOH 1 N lalu dipanaskan pada suhu 90 °C selama 10 menit. Setelah larut ditambah akuades sehingga mencapai total volume 1 ml. Penentuan jumlah biomasa berdasarkan kandungan protein sel mikrob dengan metode Lowry secara spektrofotometer (Niamke *et al.*, 2005).

Rancangan Percobaan

Rancangan acak lengkap pola faktorial 4 x 5 dengan 3 kali ulangan digunakan pada penelitian ini. Faktor pertama (A) adalah persentase formaldehida yang terdiri atas 4 level, yaitu 0%, 1%, 2%, dan 3%, sedangkan faktor kedua (B) adalah persentase CPO yang terdiri atas 5 level, yaitu 0%; 1,5%; 3%; 4,5%; dan 6%. Data yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan sidik ragam (*analysis of variance*/ANOVA) dan perlakuan yang berpengaruh nyata, diuji lanjut dengan *Duncan's new multiple range test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Asam Lemak Cairan Rumen Hasil Fermentasi

Kenaikan level formaldehida dan CPO menyebabkan rata-rata kadar asam-asam lemak mengalami peningkatan ($P < 0,01$) (Tabel 1). Terdapat interaksi antara level formaldehida dengan level CPO terhadap rata-rata kadar laurat, miristat, palmitat, oleat, linoleat ($P < 0,01$) serta stearat dan linolenat ($P < 0,05$). Kenaikan level CPO 0%-3% pada level formaldehida 0%-3% relatif meningkatkan kadar asam lemak, tetapi akan menurun dengan peningkatan level CPO 4,5%-6%. Penambahan formaldehida pada level CPO 0%-3% tidak memberikan pengaruh yang nyata, sedangkan pada level CPO 1,5% sampai 6% relatif dapat meningkatkan kadar asam lemak.

Tabel 1. Rataan kadar asam-asam lemak cairan rumen hasil fermentasi dengan level formaldehida dan *crude palm oil* (CPO) yang berbeda (g/100 g)

Asam lemak	Level CPO (%)	Level formaldehida (%)			
		0	1	2	3
Laurat	0	0,00±0,00 ^k	0,00±0,00 ^k	0,00±0,00 ^k	0,00±0,00 ^k
	1,5	0,11±0,03 ^k	0,34±0,16 ⁱ	0,59±0,21 ^{gh}	0,74±0,13 ^{efg}
	3	0,22±0,06 ^{ij}	0,26±0,12 ^{ij}	0,79±0,08 ^{ef}	0,84±0,13 ^e
	4,5	0,33±0,08 ⁱ	0,59±0,08 ^{gh}	0,62±0,09 ^{fgh}	0,64±0,01 ^{fgh}
	6	0,32±0,08 ⁱ	0,54±0,13 ^h	0,65±0,18 ^{fgh}	0,77±0,04 ^{fgh}
Miristat	0	0,00±0,00 ^l	0,00±0,00 ^l	0,00±0,00 ^l	0,00±0,00 ^l
	1,5	0,30±0,37 ^{kl}	1,32±0,24 ^{fghi}	1,47±0,42 ^{fghi}	1,59±0,43 ^{fgh}
	3	0,57±0,22 ^{kl}	1,34±0,28 ^{fghi}	1,82±0,06 ^f	1,69±0,19 ^{fg}
	4,5	0,87±0,16 ^{ijk}	1,24±0,06 ^{fghi}	1,61±0,33 ^{fgh}	2,52±0,67 ^e
	6	0,96±0,33 ^{hij}	1,06±0,81 ^{ghij}	1,42±0,47 ^{fghi}	2,92±0,50 ^e
Palmitat	0	0,00±0,00 ^o	0,00±0,00 ^o	0,00±0,00 ^o	0,00±0,00 ^o
	1,5	7,29±0,10 ^{nm}	8,59±1,42 ^{kl}	10,13±0,24 ^{hij}	11,81±1,33 ^{fg}
	3	6,33±0,95 ⁿ	7,85±0,39 ^{lm}	12,65±0,41 ^{ef}	13,09±0,74 ^e
	4,5	7,92±0,81 ^{lm}	9,29±0,10 ^{jk}	10,61±1,16 ^{ghi}	12,35±0,43 ^{ef}
	6	8,69±1,22 ^{kl}	9,51±0,57 ^{ijk}	10,85±0,79 ^{gh}	11,51±0,22 ^{fg}
Stearat	0	0,00±0,00 ^v	0,00±0,00 ^v	0,00±0,00 ^v	0,00±0,00 ^v
	1,5	1,16±0,15 ^u	2,55±0,26 ^{pqr}	2,57±0,19 ^{pqr}	2,61±0,23 ^{pqr}
	3	1,67±0,51 ^{stu}	2,15±0,58 ^{qrs}	2,33±0,25 ^{pqrs}	2,90±0,77 ^{pq}
	4,5	1,37±0,11 ^{tu}	2,47±0,43 ^{pqr}	2,24±0,66 ^{qrs}	3,06±0,63 ^p
	6	1,72±0,16 ^{stu}	1,98±0,50 ^{rst}	2,53±0,53 ^{pqr}	3,02±0,50 ^p
Oleat	0	0,00±0,00 ^l	0,00±0,00 ^l	0,00±0,00 ^l	0,00±0,00 ^l
	1,5	5,43±1,05 ^j	6,08±0,80 ^{ij}	7,69±1,11 ^{hi}	9,51±1,07 ^{fg}
	3	3,05±0,80 ^k	7,69±1,07 ^{hi}	8,75±0,80 ^{fgh}	11,29±1,31 ^e
	4,5	5,43±0,14 ^j	10,36±1,80 ^{ef}	8,19±1,27 ^{gh}	8,34±0,74 ^{gh}
	6	5,68±1,58 ^j	8,10±0,55 ^{gh}	8,79±1,06 ^{fgh}	10,32±0,53 ^{ef}
Linoleat	0	0,00±0,00 ^m	0,00±0,00 ^m	0,00±0,00 ^m	0,00±0,00 ^m
	1,5	0,18±0,22 ^m	0,41±0,31 ^{lm}	1,38±0,53 ^{jk}	3,66±0,92 ^e
	3	0,29±0,05 ^m	0,41±0,18 ^{lm}	3,39±0,68 ^{ef}	3,65±0,19 ^e
	4,5	1,55±0,46 ^{ijk}	1,88±0,54 ^{ghijk}	2,21±1,02 ^{ghij}	2,46±0,09 ^{ghi}
	6	1,23±0,95 ^{kl}	1,83±0,61 ^{hijk}	2,53±0,65 ^{fgh}	2,81±0,52 ^{efg}
Linolenat	0	0,00±0,00 ^t	0,00±0,00 ^t	0,00±0,00 ^t	0,00±0,00 ^t
	1,5	0,02±0,01 ^t	0,02±0,02 ^t	0,30±0,05 ^{pqr}	0,44±0,20 ^{pq}
	3	0,10±0,08 ^{rst}	0,08±0,12 ^{rst}	0,33±0,16 ^{pq}	0,37±0,11 ^{pq}
	4,5	0,30±0,05 ^{pqr}	0,06±0,00 st	0,30±0,18 ^{pqr}	0,27±0,17 ^{qrs}
	6	0,04±0,01 st	0,05±0,01 st	0,36±0,11 ^{pq}	0,51±0,38 ^p

Keterangan: superskrip berbeda pada baris atau kolom yang sama untuk setiap jenis asam lemak menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Peningkatan kadar asam-asam lemak yang relatif tidak terlalu besar, diduga karena masih adanya degradasi dan biohidrogenasi oleh mikrob rumen. Menurut Jenkins *et al.* (2008), lipida yang masuk dalam rumen akan mengalami lipolisis, asam-asam lemak yang tidak terproteksi akan mengalami biohidrogenasi oleh mikrob rumen. Walaupun peningkatan asam-asam lemak ini tidak terlalu besar, tetapi ini dapat

menunjukkan bahwa ikatan antara protein dalam susu afkir dan formaldehida dapat melindungi lemak CPO dari proses lipolisis dan hidrogenasi mikrob rumen. Hal ini sesuai dengan (Gilbert *et al.*, 2003), bahwa bahan pakan yang diberi perlakuan formaldehida akan tahan terhadap degradasi mikrob rumen sehingga asam lemak tidak jenuhnya akan meningkat.

Parameter Fermentasi

Kadar NH_3 . Kenaikan level formaldehida dan CPO menyebabkan kadar NH_3 mengalami penurunan ($P<0,01$) (Tabel 2). Terdapat interaksi ($P<0,05$) antara level formaldehida dan level CPO terhadap kadar NH_3 cairan rumen hasil fermentasi.

Kenaikan level CPO pada level formaldehida 0% dan 2% tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar NH_3 , tetapi pada penambahan formaldehida 1% dan 3% kadar NH_3 lebih tinggi ($P<0,05$) pada level CPO 1,5%. Kenaikan level formaldehida pada semua level CPO menurunkan kadar NH_3 ($P<0,05$), kecuali pada level CPO 1,5% yang tidak memberikan pengaruh yang nyata. Kadar NH_3 tertinggi (22,78 mg/100 ml) terdapat pada level formaldehida 0% dan level CPO 3%, sedangkan kadar NH_3 yang terendah (13,44 mg/100 ml) terdapat pada level formaldehida 3% dan level CPO 6%. Apabila dikaitkan dengan protein mikrob (Tabel 7), maka walaupun kadar NH_3 tinggi dengan penambahan formaldehida pada level CPO 1,5%, tetapi protein mikrobnya rendah, sebaliknya pada level CPO 6% protein mikrobnya lebih tinggi. Jadi dapat dikatakan bahwa kenaikan kadar NH_3 ini tidak diikuti dengan sintesis protein mikrob yang tinggi.

Secara keseluruhan dapat dikatakan bahwa makin tinggi level formaldehida dan CPO, makin menurunkan kadar NH_3 . Penurunan kadar NH_3 ini menunjukkan bahwa formaldehida mampu berikatan dengan protein dari susu bubuk afkir sehingga mengurangi kemampuan mikrob rumen dalam mendegradasi pakan. Hal ini sejalan dengan Rachmadi (2003), bahwa penggunaan formaldehida dalam memproteksi pakan mengurangi kemampuan mikrob mendegradasi protein dalam rumen sehingga dapat menurunkan konsentrasi amonia rumen. Selain itu, lemak dalam CPO yang dikapsulasi terperangkap oleh ikatan antara protein dan formaldehida (ikatan metilen), yang menyelubungi lapisan luar matriks protein, sehingga protein yang terikat dengan HCHO tidak mudah larut dalam air.

Konsentrasi amonia antara 45-235 mg/l diperlukan untuk aktivitas dan pertumbuhan mikrob rumen (Soepranionondo, 2005). Kadar NH_3 dalam penelitian ini masih berada dalam kisaran tersebut, yaitu antara 163,7-217,3 mg/l, sehingga dapat dikatakan bahwa penurunan konsentrasi NH_3 masih dalam batas yang normal.

VFA. Kenaikan level formaldehida dan CPO menyebabkan rata-rata kadar asetat, propionat, butirat, total VFA dan rasio C2:C3 mengalami penurunan ($P<0,01$) (Tabel 3). Tidak terdapat interaksi yang nyata antara level formaldehida dan CPO terhadap kadar asetat, propionat, butirat total VFA dan rasio C2:C3.

Penurunan kadar VFA ini disebabkan karena kuatnya ikatan antara formaldehida dengan protein susu bubuk afkir, sehingga protein tidak terdegradasi yang mengakibatkan VFA menurun. Selain itu, penurunan kadar VFA ini diduga disebabkan minyak sebagai agen dafaunasi. Menurut Wei-lian *et al.* (2005), total konsentrasi VFA akan menurun akibat defaunasi yang dapat menghambat proses fermentasi di dalam rumen. Menurut Onetti *et al.* (2001), penambahan lemak dalam ransum menyebabkan rasio asetat:propionat menurun signifikan.

Kadar total VFA yang diperoleh dalam penelitian ini berkisar 19,53-32,77 mM/l. Menurut Mc Donald *et al.* (2002), konsentrasi VFA dalam rumen bervariasi 0,2-1,5 g/100 ml atau $\pm 10-70$ mM/l, sehingga dapat dikatakan bahwa kadar VFA yang diperoleh masih dalam batas yang normal.

Derajat keasaman (pH). Kenaikan level formaldehida dan CPO menyebabkan pH mengalami penurunan ($P<0,01$) (Tabel 4). Terdapat interaksi yang sangat nyata ($P<0,01$) antara level formaldehida dan level CPO terhadap pH cairan rumen hasil fermentasi.

Kenaikan level CPO 0%-4,5% pada level formaldehida 0%-3% relatif menurunkan pH ($P<0,01$). Kenaikan level formaldehida 2% pada level CPO 0%-6% relatif menurunkan pH ($P<0,01$). Nilai pH tertinggi (7,00) terdapat pada level formaldehida 0% dan level CPO 0%, sedangkan nilai pH yang terendah (6,82) terdapat pada level formaldehida 2% dan level CPO 4,5%. Secara keseluruhan dapat dikatakan bahwa makin tinggi level formaldehida dan CPO, makin menurunkan nilai pH. Penurunan pH ini diduga karena efek defaunasi oleh minyak. Menurut Kamra (2005), efek defaunasi dapat menyebabkan terjadinya penurunan amonia nitrogen secara signifikan, pH rumen menjadi tidak stabil dan cenderung mengalami penurunan. Penelitian Polviset (2010) yang memberikan lemak dari biji kapas dan bunga matahari masing-masing 3%-6% memperoleh kisaran pH sebesar 7,00-7,36, sedangkan nilai pH

Tabel 2. Rataan kadar NH_3 cairan rumen hasil fermentasi dengan level formaldehida dan *crude palm oil* (CPO) yang berbeda (mg/100 ml)

Level CPO (%)	Level formaldehida (%)			
	0	1	2	3
0	21,13 \pm 0,95 ^{def}	16,37 \pm 1,69 ^{ijk}	18,39 \pm 1,62 ^{fghij}	13,84 \pm 0,69 ^{jk}
1,5	21,36 \pm 1,54 ^{def}	19,97 \pm 2,68 ^{defgh}	20,67 \pm 2,19 ^{defg}	19,96 \pm 0,58 ^{defgh}
3	22,78 \pm 2,36 ^d	16,75 \pm 1,49 ^{hijk}	19,26 \pm 0,45 ^{efghi}	19,33 \pm 4,28 ^{efghi}
4,5	20,95 \pm 1,07 ^{def}	16,30 \pm 0,89 ^{ijk}	17,58 \pm 2,35 ^{ghij}	15,27 \pm 2,06 ^{jk}
6	22,41 \pm 0,64 ^{de}	15,68 \pm 1,21 ^{jk}	16,19 \pm 0,64 ^{ijk}	13,44 \pm 0,21 ^k

Keterangan: superskrip berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$).

Tabel 3. Rataan kadar VFA cairan rumen hasil fermentasi dengan level formaldehida dan *crude palm oil* (CPO) yang berbeda (mM)

VFA	Level CPO (%)	Level formaldehida (%)				Rataan
		0	1	2	3	
Asetat	0	28,83±2,11	21,35±0,31	21,11±4,07	16,14±0,60	21,86±5,23 ^a
	1,5	28,58±1,10	22,92±4,20	21,85±0,66	15,97±0,23	22,33±5,17 ^a
	3	27,06±1,50	21,63±0,21	19,04±1,40	15,60±0,86	20,83±4,83 ^{ab}
	4,5	24,12±1,85	21,56±1,66	18,59±1,20	14,54±0,15	19,70±4,12 ^{bc}
	6	22,15±3,28	20,03±0,51	16,93±0,85	15,51±0,91	18,66±3,00 ^c
	Rataan	26,15±2,92 ^a	21,50±1,03 ^b	19,51±1,98 ^c	15,55±0,62 ^d	
Propionat	0	3,78±1,43	3,02±0,39	3,14±0,51	2,30±0,21	3,06±0,61 ^a
	1,5	4,19±0,19	3,18±0,52	2,55±0,41	2,44±0,07	3,09±0,80 ^a
	3	4,07±0,34	2,88±0,36	2,73±0,43	2,60±0,25	3,07±0,68 ^a
	4,5	3,56±0,81	2,54±0,55	2,99±0,63	2,55±0,47	2,91±0,48 ^a
	6	2,87±0,89	2,31±0,63	2,62±0,13	2,77±0,66	2,64±0,24 ^a
	Rataan	3,49±0,52 ^a	2,79±0,35 ^b	2,81±0,25 ^b	2,53±0,18 ^b	
Butirat	0	3,82±1,05	2,11±0,41	2,58±1,46	1,27±0,25	2,44±1,07 ^a
	1,5	2,84±0,52	2,35±0,66	2,53±0,59	1,34±0,15	2,26±0,65 ^{ab}
	3	2,97±0,32	2,68±0,16	1,69±0,51	1,71±0,77	2,26±0,66 ^{ab}
	4,5	2,63±0,34	2,04±0,49	1,80±0,78	1,40±0,47	1,97±0,52 ^{ab}
	6	2,37±0,65	2,20±0,67	1,29±0,05	1,52±0,39	1,84±0,52 ^b
	Rataan	2,93±0,55 ^a	2,28±0,26 ^b	1,97±0,56 ^b	1,45±0,17 ^c	
Total VFA	0	36,43±2,20	26,47±0,77	26,82±5,74	19,70±1,01	27,36±6,88 ^a
	1,5	35,61±0,46	28,45±5,35	26,93±0,38	19,76±0,40	27,69±6,50 ^a
	3	34,10±2,11	27,20±0,65	23,46±2,28	19,91±1,85	26,16±6,07 ^{ab}
	4,5	30,32±2,94	26,14±2,66	23,38±2,59	18,48±0,86	24,58±4,97 ^{bc}
	6	27,40±4,80	24,55±1,11	20,84±1,02	19,79±1,68	23,14±3,49 ^c
	Rataan	32,77±3,81 ^a	26,56±1,43 ^b	24,29±2,59 ^c	19,53±0,59 ^d	
Rasio C2 : C3	0	8,34±2,89	7,15±0,89	6,80±1,50	7,05±0,40	7,34±0,69 ^a
	1,5	6,84±0,58	7,20±0,30	8,74±1,66	6,54±0,12	7,33±0,98 ^a
	3	6,66±0,29	7,58±0,93	7,04±0,61	6,01±0,30	6,83±0,66 ^a
	4,5	6,94±1,10	8,67±1,35	6,33±0,85	5,83±1,02	6,94±1,24 ^a
	6	7,95±1,21	9,09±2,32	6,46±0,13	5,76±1,07	7,32±1,49 ^a
	Rataan	7,35±0,75 ^a	7,94±0,89 ^a	7,07±0,97 ^{ab}	6,24±0,55 ^b	

Keterangan: superskrip berbeda pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata (P<0,01)

Tabel 4. Rataan pH cairan rumen hasil fermentasi dengan level formaldehida dan *crude palm oil* (CPO) yang berbeda

Level CPO (%)	Level formaldehida (%)			
	0	1	2	3
0	7,00±0,00 ^a	6,98±0,01 ^{ef}	6,96±0,02 ^f	6,96±0,01 ^f
1,5	6,93±0,02 ^g	6,87±0,01 ^{hijk}	6,87±0,01 ^{ijk}	6,90±0,03 ^h
3	6,93±0,02 ^g	6,87±0,01 ^{ijk}	6,85±0,01 ^k	6,88±0,03 ^{hij}
4,5	6,88±0,02 ^{hijk}	6,85±0,02 ^{jk}	6,82±0,00 ^l	6,93±0,02 ^g
6	6,88±0,02 ^{hi}	6,85±0,01 ^{jk}	6,85±0,01 ^k	6,88±0,02 ^{hijk}

Keterangan: superskrip berbeda pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata (P<0,01).

yang diperoleh dalam penelitian ini berkisar 6,87-6,98, sehingga dapat dikatakan bahwa penurunan nilai pH ini masih dalam batas yang normal.

Aktivitas Mikrob

CMC-ase. Kenaikan level formaldehida menyebabkan aktivitas CMC-ase mengalami kenaikan ($P<0,01$), sedangkan kenaikan level CPO menyebabkan aktivitas CMC-ase cenderung mengalami penurunan ($P<0,01$) (Tabel 5). Terdapat interaksi yang sangat nyata ($P<0,01$) antara level formaldehida dan level CPO terhadap rata-rata aktivitas CMC-ase cairan rumen hasil fermentasi.

Kenaikan level CPO 1,5% dan 3% pada level formaldehida 0% menurunkan aktivitas CMC-ase ($P<0,01$) (Tabel 5). Aktivitas CMC-ase pada level formaldehida 1% dan 2% menurun ($P<0,01$), masing-masing pada kenaikan level CPO 3% dan 1,5%, sedangkan pada level formaldehida 3%, kenaikan level CPO tidak memberikan pengaruh yang nyata. Aktivitas CMC-ase akan meningkat pada level CPO 3% dan 4,5%, dan level formaldehida 1%, sedangkan pada level CPO 0%; 1,5% dan 6%, kenaikan level formaldehida tidak memberikan pengaruh yang nyata. Aktivitas CMC-ase tertinggi (20,74 U/g) terdapat pada level formaldehida 3% dan level CPO 0%, sedangkan aktivitas CMC-ase yang terendah (14,42 U/g) terdapat pada level formaldehida 0% dan level CPO 3%. Secara keseluruhan dapat dikatakan bahwa kenaikan level formaldehida dapat meningkatkan aktivitas CMC-ase, sedangkan kenaikan level CPO dapat menurunkan

aktivitas CMC-ase. Peningkatan aktivitas CMC-ase akibat kenaikan level formaldehida diduga karena lemak sebagai agen defaunasi yang terproteksi, sehingga tidak mengganggu bakteri selulolitik. Sebaliknya, penurunan aktivitas CMC-ase akibat kenaikan level CPO disebabkan minyak dalam CPO cenderung menutupi partikel pakan sehingga menutup akses permukaan membran sel mikroba bersentuhan dengan pakan, akibatnya mengganggu fermentasi rumen dan mengurangi pencernaan serat (Hristov *et al.*, 2009; Vafa *et al.*, 2009). Menurut Pilajun *et al.* (2010), lemak yang tinggi dalam pakan ruminansia sangat berpengaruh negatif terhadap fermentasi mikrob rumen. Apabila dikaitkan dengan total VFA (Tabel 3), kenaikan level formaldehida dan CPO menurunkan kadar total VFA ($P<0,01$) tetapi berada dalam batas yang normal, maka penurunan aktivitas CMC-ase inipun relatif masih dalam batas normal.

Jumlah protozoa. Kenaikan level formaldehida menyebabkan rata-rata jumlah protozoa mengalami peningkatan ($P<0,01$), tetapi kenaikan level CPO menyebabkan rata-rata jumlah protozoa cenderung mengalami penurunan ($P<0,01$) (Tabel 6). Terdapat interaksi yang nyata ($P<0,05$) antara level formaldehida dan level CPO terhadap rata-rata jumlah protozoa cairan rumen hasil fermentasi.

Kenaikan level CPO 0%-6% pada level formaldehida 0%-3% tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah protozoa. Terjadi peningkatan jumlah protozoa ($P<0,01$) pada level CPO 0% dan level for-

Tabel 5. Rataan aktivitas CMC-ase cairan rumen hasil fermentasi dengan level formaldehida dan *crude palm oil* (CPO) yang berbeda (U/g)

Level CPO (%)	Level formaldehida (%)			
	0	1	2	3
0	19,19±0,46 ^{efgh}	19,71±0,79 ^{defg}	20,42±0,46 ^{de}	20,74±1,86 ^d
1,5	17,24±0,24 ⁱ	18,58±0,43 ^{fghi}	17,63±0,22 ⁱ	19,20±0,74 ^{efgh}
3	14,42±0,60 ^j	17,34±0,50 ⁱ	18,13±1,09 ^{hi}	18,36±0,72 ^{ghi}
4,5	15,61±1,30 ^j	18,24±0,75 ^{ghi}	19,40±0,35 ^{defgh}	19,66±0,26 ^{defg}
6	19,34±0,66 ^{defgh}	19,52±0,47 ^{defgh}	19,38±1,01 ^{defgh}	19,98±0,50 ^{defg}

Keterangan: superskrip berbeda pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P<0,01$).

Tabel 6. Rataan jumlah protozoa cairan rumen hasil fermentasi dengan level formaldehida dan CPO yang berbeda ($\times 10^3/\text{ml}$)

Level CPO (%)	Level formaldehida (%)			
	0	1	2	3
0	17,30±1,27 ^{fghi}	17,56±3,30 ^{fghi}	22,36±0,42 ^{ef}	27,70±2,11 ^d
1,5	16,83±1,75 ^{ghi}	16,88±1,13 ^{ghi}	17,63±0,99 ^{fghi}	17,92±0,20 ^{fghi}
3	15,47±4,09 ^{hi}	16,06±2,71 ^{ghi}	20,98±1,56 ^{efg}	25,03±0,56 ^{de}
4,5	14,81±3,46 ^{hi}	21,23±0,70 ^{efg}	18,24±7,03 ^{fgh}	18,56±1,41 ^{fgh}
6	12,66±2,68 ⁱ	15,14±2,32 ^{hi}	16,73±2,99 ^{ghi}	17,53±4,58 ^{fghi}

Keterangan: superskrip berbeda pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P<0,01$).

Tabel 7. Rataan protein mikrob cairan rumen hasil fermentasi dengan level formaldehida dan *crude palm oil* (CPO) yang berbeda (mg/ml)

Level CPO (%)	Level formaldehida (%)				Rataan
	0	1	2	3	
0	0,08±0,01	0,09±0,02	0,10±0,02	0,10±0,01	0,09±0,01 ^c
1,5	0,07±0,03	0,07±0,01	0,09±0,00	0,10±0,02	0,08±0,01 ^c
3	0,10±0,01	0,10±0,01	0,08±0,01	0,12±0,01	0,10±0,01 ^{bc}
4,5	0,11±0,03	0,11±0,00	0,11±0,01	0,11±0,03	0,11±0,00 ^{ab}
6	0,10±0,01	0,11±0,05	0,14±0,03	0,14±0,02	0,12±0,02 ^a
Rataan	0,09±0,02 ^c	0,10±0,02 ^b	0,10±0,02 ^{ab}	0,11±0,02 ^a	

Keterangan: superskrip berbeda pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

maldehida 3%. Jumlah protozoa tertinggi ($27,70 \times 10^3/\text{ml}$) terdapat pada level formaldehida 3% dan level CPO 0%, sedangkan jumlah protozoa terendah ($12,66 \times 10^3/\text{ml}$) terdapat pada level formaldehida 0% dan level CPO 6%. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa kenaikan level formaldehida dapat meningkatkan jumlah protozoa, sedangkan kenaikan level CPO dapat menurunkan jumlah protozoa. Peningkatan jumlah protozoa akibat kenaikan level formaldehida menunjukkan bahwa peningkatan level formaldehida sampai 3% relatif belum berpengaruh negatif terhadap jumlah protozoa, sebaliknya peningkatan level CPO berpengaruh negatif terhadap jumlah protozoa karena minyak dapat berperan sebagai agen defaunasi bagi protozoa rumen. Penambahan lemak dalam ransum menyebabkan jumlah protozoa rumen menurun signifikan (Onetti *et al.*, 2001; Ueda *et al.*, 2003). Menurut Hristov *et al.* (2004), jumlah protozoa semakin menurun seiring dengan semakin banyaknya ikatan rangkap yang terkandung di dalam asam lemak tidak jenuh berantai panjang. Pakan yang tinggi asam lemak linoleat, jumlah protozoanya lebih rendah ($1,37 \times 10^5/\text{ml}$) dibanding asam lemak oleat ($2,58 \times 10^5/\text{ml}$) (Hristov *et al.* 2005).

Protein mikrob. Kenaikan level formaldehida dan CPO menyebabkan rata-rata protein mikrob mengalami peningkatan ($P < 0,01$) (Tabel 7). Tidak terdapat interaksi yang nyata antara level formaldehida dan level CPO terhadap rata-rata protein mikrob cairan rumen hasil fermentasi.

Peningkatan protein mikrob ini berkaitan dengan penurunan jumlah protozoa akibat kenaikan level CPO (Tabel 6). Protozoa merupakan predator bakteri, sehingga apabila terjadi perubahan pada protozoa akan memberikan kesempatan bagi bakteri untuk berkembang. Menurut Hristov *et al.* (2005), pakan yang tinggi asam lemak linoleat, jumlah amoniannya lebih tinggi (4,66 mM) dibanding asam lemak oleat (4,23 mM), tetapi tidak berbeda nyata.

KESIMPULAN

Kapsulasi CPO menggunakan formaldehida dapat melindungi asam-asam lemak tidak jenuh, menurunkan parameter fermentasi (masih dalam batas normal), dan

meningkatkan aktivitas mikrob cairan rumen hasil fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abreu, A., J. E. Carulla, C. E. Lascano, T. E. Díaz, M. Kreuzer, & H. D. Hess. 2004. Effects of *Sapindus saponaria* fruits on ruminal fermentation and duodenal nitrogen flow of sheep fed a tropical grass diet with and without legume. *J. Anim. Sci.* 82:1392-1400.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 11th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Washington, DC.
- de Veth, M. J., S. K. Gulati., N. D. Luchini., & D. E. Bauman. 2005. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. *J. Dairy Sci.* 88:1685-1693. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72840-X
- Gilbert, C. D., D. K. Lunt., R. K. Miller, & S. B. Smith. 2003. Carcass, sensory, and adipose tissue traits of Brangus steers fed casein-formaldehyde-protected starch and/or canola lipid. *J. Anim. Sci.* 81:2457-2468.
- Halliwel, G., N. N. B. A. Wahab, & A. H. Patle. 1985. Chemical Composition of Endo 1,4- β -glucanase to cellulotic in *Trichoderma koningii*. *J. App. Biochemistry.* 7:43-45.
- Hristov, A. N., M. Ivan, & T. A. McAllister. 2004. *In vitro* effects on individual fatty acids on protozoal numbers and on fermentation products in ruminal fluid from cattle fed a high concentrate, barley-based diet. *J. Anim. Sci.* 82: 2693-2704.
- Hristov, A. N., L. R. Kennington., M. A. McGuire, & C. W. Hunt. 2005. Effect of diets containing linoleic acid- or oleic acid-rich oils on ruminal fermentation and nutrient digestibility, and performance and fatty acid composition of adipose and muscle tissues of finishing cattle. *J. Anim. Sci.* 83:1312-1321.
- Hristov, A. N., P. M. Vander, M. Agle, S. Zaman, & C. Schneider. 2009. Effect of lauric acid and coconut oil on ruminal fermentation, digestion, ammonia losses from manure, and milk fatty acid composition in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 92:5561-5582.
- Jalč, D., A. Potkański., M. Szumacher-Strabel, J. Kowalczyk, & A. Cieślak. 2006. The effect of a high concentrate diet and different fat sources on rumen fermentation *in vitro*. *J. Anim. Feed Sci.* 15: 137-140.
- Jenkins, R. J. Wallace, P. J. Moate, & E. E. Mosley. 2008. Board-Invited Review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* 86:397-412.
- Kamra, D. N. 2005. Rumen microbial ecosystem. Special sec-

- tion: Microbial diversity. *Current Sci.* 89:124-135.
- Kitessa, S. M., S. K. Gulati, J. R. Ashes, E. Fleck, T. W. Scott, & P. D. Nichols.** 2001. Utilisation of fish oil in ruminants. I. Fish oil metabolism in sheep. *J. Anim. Feed Sci. Tech.* 89:189-199.
- Loi, C. C., H. C. Boo, A. S. Mohammed, & A. A. Ariffin.** 2010. A high performance liquid chromatography method for determination of furfural in crude palm oil. *J. Food Chem.* doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.108. (in press).
- Mauger, J. F., A. H. Lichtenstein, L. M. Ausman, S. M. Jalbert, M. Jauhainen, C. Ehnholm, & B. Lamarche.** 2003. Effect of different forms of dietary hydrogenated fats on LDL particle size. *Am. J. Clin. Nutr.* 78:370-375.
- Menke, K. H. & H. Steingass.** 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development.* 28: 7-55.
- Mc Donald, P., R. A. Edwards, & J. F. D. Greenhalg.** 2002. *Animal Nutrition.* 4th Ed. Longman Scientific and Technical Co. with Willey and Sons. Inc., New York.
- Mukherjee, S. & A. Mitra.** 2009. Health effects of palm oil. *J. Hum. Ecol.* 26: 197-203.
- Niamke, S., L. P. Kouame, J. P. Kouadio, D. Koffi, B. M. Faulet, & S. Dabonne.** 2005. Effect of some chemicals on the accuracy of protein estimation by the Lowry method. *Biokemistri* 17: 73-81. <http://www.bioline.org.br/request?bk05011>
- Onetti, S. G., R. D. Shaver, M.A. McGuire, & R. R. Grummer.** 2001. Effect of type and level of dietary fat on rumen fermentation and performance of dairy cows fed corn silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 84:2751-2759
- Pilajun, R., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, & C. Navanukroaw.** 2010. Effect of coconut oil and sunflower oil ratio on ruminal fermentation, rumen microorganism, N-balance and digestibility in cattle. *J. Anim. Vet. Adv.* 9: 1868-1874.
- Polviset, W., C. Wachirapakorn, A. Alhaidary, H. E. Mohamed, A. C. Beynen, & C. Yuangklang.** 2010. Rumen fermentation and nutrient digestibility in beef steers fed rations containing either cotton seed or sunflower seed. *Res. J. Biol. Sci.* 5:204-208. DOI: 10.3923/rjbsci.2010.204.208
- Rachmadi, D.** 2003. Dampak pemberian bungkil inti sawit dan konsentrat yang dilindungi formaldehida pada domba terhadap kinerja dan kandungan asam lemak poli takjenuh. Desertasi. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ranilla, M. J., M. D. Carro, S. Lopez, C. J. Newbold, & R. J. Wallace.** 2001. Influence of nitrogen source on the fermentation of fibre from barley straw and sugarbeet pulp by ruminal microorganism *in vitro*. *Br. J. Nutr.* 86: 717-724. doi : 10.1079/BJN2001475.
- Sampaio, K. A., R. Ceriani, S. M. Silva, T. Taham, & A. J. A. Meirelles.** 2010. Steam deacidification of palm oil. *Food and Bioproducts Processing.* doi:10.1016/j.fbp.2010.11.012. (in press).
- Soepranianondo, K.** 2005. Dampak isi rumen sapi sebagai substitusi rumput raja terhadap produk metabolit pada kambing peranakan etawa. *Media Kedokteran Hewan* 21: 94-96.
- Suharyanto, Tri Panji, M. I. Abdullah, & K. Syamsu.** 2006. Biokonversi CPO dengan desaturasi amobil sistem kontinyu pada skala semipilot untuk produksi minyak mengandung GLA. *Menara Perkebunan.* 74: 97-108.
- Ueda, K., A. Ferlay, J. Chabrot, J. J. Loo, Y. Chilliard, & M. Doreau.** 2003. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage: concentrate rations. *J. Dairy Sci.* 86: 3999-4007.
- Vafa, T. S., A. A. Naserian, & A. R. H. Moussavi.** 2009. Effect of different levels of fis oil and canola oil on *in vitro* and *in vivo* nutrient digestibility. *Res. Biol. Sci.* 4:1221-1226.
- Weatherburn, M. W.** 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.* 39: 971-974. doi: 10.1021/ac60252a045.
- Wei-lian, Hu, Wu Y. M., Liu J. X., Guo Y. Q., & Ye J. A.** 2005. Tea saponins affect *in vitro* fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *J. Zhejiang Univ. SCI.* 6B:787-792.
- Wood, J. D., M. Enser, A. V. Fisher, G. R. Nute, P. R. Sheard, R. I. Richardson, S. I. Hughes, & F. M. Whittington.** 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* 78 : 343-358.